·论著·

胰高糖素样肽 -1 受体激动剂改善高果糖饮食诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积机制研究

高哲[1]，段凯欣[2]，吕秀芹[1]，马慧娟[1]，张志梅[1]，宋光耀[1*]

【摘要】 背景 非酒精性脂肪肝发病率逐年升高但无特效药物，临床和基础研究显示降糖药物胰高糖素样肽 -1（GLP-1）受体激动剂能改善肝脏脂质沉积，但具体机制不明确。目的 探讨 GLP-1 受体激动剂改善高果糖诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积的机制。方法 2016 年 1—4 月选取 Wistar 大鼠 36 只随机分为对照（ND）组和造模组，ND 组给予普通饲料、造模组给予高果糖饲料喂养，8 周后行高胰岛素 – 正葡萄糖钳夹试验证实造模组胰岛素抵抗形成，继续将造模组大鼠随机分为高果糖（HFD）组和高果糖 + 艾塞那肽（HFD+Ex）组，HFD+Ex 组给予艾塞那肽注射液腹部皮下注射 4 周后，观察糖脂水平、胰岛素抵抗、肝脏脂质沉积、β -catenin 表达和核转位以及脂质合成通路因子的变化。进一步用转染技术在 HepG2 细胞用小干扰 RNA 抑制 β -catenin 的表达观察细胞脂质沉积和脂质合成通路相关因子的变化，将 HepG2 细胞用 25 mmol/L 果糖和 100 nmol/L 艾塞那肽 -4 处理，未转染的细胞用作对照，全部细胞分为正常对照组（Con）、高果糖（HF）组、高果糖 +exendin-4（HF+Ex4）组、高果糖 +exendin-4+ 对照 siRNA（HF+Ex4+Si-control）组、高果糖 +exendin-4+β -catenin siRNA（HF+Ex4+Si-β -catenin）组。实验结束后收集大鼠体质量、肝指数、三酰甘油（TG）、总胆固醇（TC）、游离脂肪酸（FFA）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）、空腹血糖（FBG）、空腹胰岛素（FINS）、葡萄糖曲线下面积（AUCglu）、葡萄糖输注速率（GIR）、肝脏 TG、肝脏油红 O 染色，并测定固醇调节元素结合蛋白 1（SREBP-1）和下游脂质合成的关键酶脂肪酸合成酶（FAS）、乙酰辅酶 A 羧化酶（ACC）、硬脂酰 CoA 脱饱和酶 1（SCD-1）以及 β -catenin 的蛋白表达水平。结果 （1）高果糖喂养 8 周后造模组大鼠体质量、肝指数、肝脏 TG 水平均高于 ND 组，GIR 低于 ND 组（$P<0.05$）；药物干预 4 周后 HFD 组大鼠体质量、肝指数、TG、FFA、ALT、FBG、FINS、AUCglu 高于 ND 组，GIR 低于 ND 组（$P<0.05$）；HFD+Ex 组大鼠体质量、肝指数、FFA、ALT、FBG、FINS、AUCglu 低于 HFD 组，GIR 高于 HFD 组（$P<0.05$）。（2）HFD 组大鼠肝脏 TG 水平高于 ND 组（$P<0.05$），油红 O 染色肝细胞内可见大量红色脂滴聚集；HFD+Ex 组大鼠肝脏 TG 水平低于 HFD 组（$P<0.05$），肝细胞内红色脂滴减少。（3）HFD 组大鼠肝脏脂质从头合成通路 SREBP-1、FAS、SCD-1、ACC 蛋白表达均高于 ND 组（$P<0.05$）；HFD+Ex 组 SREBP-1、FAS、SCD-1、ACC 蛋白表达均低于 HFD 组（$P<0.05$）。（4）HFD 组大鼠肝组织 β -catenin 的总蛋白及核内蛋白表达低于 ND 组（$P<0.05$）；HFD+Ex 组 β -catenin 的总蛋白及核内蛋白表达高于 HFD 组（$P<0.05$）。（5）HF+Ex4 组、HF+Ex4+Si-control 组细胞 β -catenin 总蛋白、核内蛋白表达均高于 HF 组，TG 水平低于 HF 组（$P<0.05$）；HF+Ex4+Si-β -catenin 组细胞 β -catenin 总蛋白、核内蛋白表达低于 HF+Ex4 组，TG 水平高于 HF+Ex4 组（$P<0.05$）。（6）HF+Ex4 组、HF+Ex4+Si-control 组细胞脂质从头合成通路 SREBP-1、ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达均低于 HF 组（$P<0.05$）；HF+Ex4+Si-β -catenin 组 SREBP-1、ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达高于 HF+Ex4 组（$P<0.05$）。结论 GLP-1 受体激动剂可能通过调控 β -catenin 表达改善胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积，是治疗非酒精性脂肪肝的潜在新药，β -catenin 可能是药物治疗的重要靶标。

【关键词】 非酒精性脂肪性肝病；胰岛素抵抗；果糖；GLP-1 受体激动剂；β -catenin；肝脏脂质沉积；大鼠
【中图分类号】 R 589 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0062
高哲，段凯欣，吕秀芹，等．胰高糖素样肽 -1 受体激动剂改善高果糖饮食诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积机制研究［J］. 中国全科医学，2023.［Epub ahead of print］.［www.chinagp.net］
GAO Z，DUAN K X，LYU X Q，et al. Mechanism of glucagon-like peptide-1 receptor agonist improving liver lipid deposition in a rat model of insulin resistance induced by high-fructose diet［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.

Mechanism of GLucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist Improving Liver Lipid Deposition in a Rat Model of Insulin Resistance Induced by High-fructose Diet *GAO Zhe*[1]，*DUAN Kaixin*[2]，*LYU Xiuqin*[1]，*MA Huijuan*[1]，*ZHANG Zhimei*[1]，

基金项目：河北省自然科学基金资助项目（H2022307079）；河北省人才工程培养资助项目（A201901015）
1.050051 河北省石家庄市，河北省人民医院内分泌科 2.075000 河北省张家口市，河北北方学院研究生院
* 通信作者：宋光耀，主任医师 / 教授；E-mail：sguangyao@163.com
本文数字出版日期：2023-03-30

SONG Guangyao[1*]

1.Department of Endocrinology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China

2.Graduate School of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

[*]Corresponding author: SONG Guangyao, Chief physician/Professor; E-mail: sguangyao@163.com

【Abstract】 Background The incidence rate of nonalcoholic fatty liver disease is increasing year by year, but there is still no effective cure. Clinical and basic studies show that a type of hypoglycemic drug, namely glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists can improve liver lipid deposition, but the specific mechanism is unknown. **Objective** To explore the mechanism of GLP-1 receptor agonists improving liver lipid deposition in a rat model of insulin resistance induced by high-fructose diet. **Methods** This experiment was carried out from January to April 2016. Thirty-six Wistar rats were randomly divided into a control group (ND) receiving a normal diet and a model group receiving a high-fructose diet. After 8 weeks, a hyperinsulinemic-euglycemic clamp test was performed in the model group to verify the formation of insulin resistance. The rats in the model group were further randomized into a high-fructose (HFD) subgroup and a high fructose with exenatide (HFD+Ex) subgroup. The changes of glucose and lipid levels, insulin resistance, liver lipid deposition, the expression and nuclear translocation of β-catenin and lipid synthesis pathway related factors were observed in HFD+Ex subgroup at four weeks after receiving subcutaneous abdominal injection of Exenatide injection. Further changes in cell lipid deposition and lipid synthesis pathway related factors were observed after inhibiting the expression of β-catenin with small interfering RNA (siRNA) by transfection techniques in HepG2 cells. HepG2 cells were treated with 25 mmol/L fructose, 100 nmol/L exendin-4, and non-transfected HepG2 cells were used as controls. ALL of the cells were divided into normal control group (Con), high-fructose (HF) group, high fructose with exendin-4 (HF+Ex4) group, high fructose with exendin-4 and control siRNA (HF+Ex4+Si-control) group, and high fructose with exendin-4 and β-catenin siRNA (HF+Ex4+Si-β-catenin) group. After the experiment, the rats' weight and liver index, serum concentrations of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), free fatty acid (FFA), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS) and liver TG concentration were measured, and the area under the plasma glucose curve (AUCglu), and glucose infusion rate (GIR) were calculated, and lipid droplets in liver tissues were observed using Oil Red O staining. The protein expression levels of sterol regulatory element binding protein 1 (SREBP-1) and the key enzymes for downstream lipid synthesis, fatty acid synthase (FAS), acetyl coenzyme A carboxylase (ACC), stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD-1) and β-catenin were also measured. **Results** (1) After 8-week high-fructose feeding, the model group had significantly higher weight, liver index and liver TG concentration, and lower GIR than the ND group (P<0.05). After 4 weeks of drug intervention, HFD subgroup demonstrated higher weight, liver index, TG, FFA, ALT, FBG, FINS and AUCglu, and lower GIR than the ND group (P<0.05). HFD+Ex subgroup showed lower weight, liver index, FFA, ALT, FBG, FINS, and AUCglu, and higher GIR than HFD subgroup (P<0.05). (2) Compared with ND group, HFD subgroup demonstrated higher concentration of TG in the liver (P<0.05), and a large number of red lipid droplets in liver cells. HFD+Ex subgroup had lower concentration of TG in the liver (P<0.05) and reduced red lipid droplets in liver cells compared with HFD subgroup. (3) Compared with ND group, the expression of factors related to de novo lipid synthesis pathway, namely SREBP-1, FAS, SCD-1 and ACC in liver tissue of rats in HFD subgroup increased (P<0.05). Compared with HFD subgroup, the protein expression of SREBP-1, FAS, SCD-1 and ACC in HFD+Ex subgroup decreased (P<0.05). (4) Compared with ND group, the expression levels of total protein and nuclear protein of β-catenin in hepatic tissue in HFD subgroup were significantly decreased (P<0.05). Compared with HFD subgroup, the expression levels of total protein and nuclear protein of β-catenin increased in HFD+Ex subgroup (P<0.05). (5) Compared the cells treated with HF, HF+Ex4 group had higher expression levels of total protein and nuclear protein of β-catenin and lower concentration of serum TG, and so did HF+Ex4+Si-control group (P<0.05). Compared with HF+Ex4 group, HF+Ex4+Si-β-catenin group had down-regulated expression of total protein and nuclear protein of β-catenin (P<0.05). The concentration of serum TG in HF+Ex4+Si-β-catenin group was higher than that in HF+Ex4 group (P<0.05). (6) HF+Ex4 group had lower protein expression levels of SREBP-1, ACC, FAS, and SCD-1 in the de novo lipid synthesis pathway than HF group, and so did the HF+Ex4+Si-control group (P<0.05). The protein expression levels of SREBP-1, ACC, FAS, and SCD-1 in HF+Ex4+Si-β-catenin group were higher than those in HF+Ex4 group (P<0.05). **Conclusion** GLP-1 receptor agonists may regulate β-catenin expression to improve liver lipid deposition in rats with insulin resistance, which are potential new drugs for nonalcoholic fatty liver disease. β-catenin may be an important target for drug treatment.

【Key words】 Non-alcoholic fatty liver disease; Insulin resistance; Fructose; GLP-1 receptor agonist; β-catenin; Liver lipid deposition; Rats

胰岛素抵抗是2型糖尿病（T2DM）和非酒精性脂肪性肝病（NAFLD）共同的发病机制，二者关系密切[1]。流行病学调查显示，NAFLD患者中约22.5%合并T2DM，28%~70%的T2DM患者合并NAFLD[2]。夏明锋等[3]建议临床内分泌医生在处理T2DM合并NAFLD患者时应优先考虑同时具有血糖和肝脏获益的降糖药，在今后降糖药物的研发时应考虑糖尿病和NAFLD两方面的终点改善。

临床研究发现降糖新药GLP-1受体激动剂能改善T2DM患者肝脏脂质沉积，但具体机制尚不明确[4-5]。β-catenin早期发现其主要功能为参与细胞间黏附，后来发现β-catenin还参与了信号转导、代谢等，与NAFLD、糖尿病、肥胖的发生、发展密切相关[6]。而且β-catenin也是GLP-1在多个器官发挥功能的重要参与者[7]。GLP-1通过β-catenin作用于胰岛β细胞改善糖代谢[8]，也可以通过β-catenin介导脂肪的生成。2010年首次发现人原代肝细胞存在GLP-1受体[9]，研究表明敲除β-catenin基因的小鼠肝脏三酰甘油（TG）含量增高[10]，GLP-1是否可以通过调控β-catenin抑制肝脏脂质沉积尚待研究。因此，本研究通过给予高果糖诱导的胰岛素抵抗大鼠GLP-1受体激动剂干预，观察胰岛素抵抗、肝脏脂质沉积、脂质从头合成途径和β-catenin水平的变化，并通过转染技术在细胞水平下调β-catenin表达，探讨GLP-1受体激动剂是否通过调控β-catenin表达抑制脂质从头合成途径改善肝脏脂质沉积，揭示GLP-1与β-catenin在肝脏脂质合成中的内在关系，在细胞及动物水平探讨GLP-1受体激动剂改善高果糖诱导的脂质沉积分子机制，为阐明其作为可能的治疗NAFLD的新药提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物和细胞 Wistar大鼠购自于河北医科大学实验动物中心（实验动物质量合格证：1502010）；HepG2细胞来源于协和细胞库，于河北省人民医院临床医学研究中心保存。所有实验均经河北省人民医院动物伦理委员会批准（202213）。

1.1.2 实验主要试剂和仪器 食品级结晶果糖（河北华旭药业有限公司），果糖（Sigma Chemical，St. Louis，MO，美国），艾塞那肽注射液（Baxter Pharmaceutical Solutiongs LLC，美国），exendin-4（E7144，Sigma-Aldrich，St. Louis，MO，美国），SREBP-1抗体（2438，Santa Cruz Biotechnology Inc，美国），硬脂酰CoA脱饱和酶1（SCD-1）抗体（11815，Abcam，美国），乙酰辅酶A羧化酶（ACC）抗体（3662，Cell Signaling Technology Inc，美国），脂肪酸合成酶（FAS）抗体（9874，Cell Signaling Technology Inc，美国），β-actin抗体（66009-1-Ig，Cambridge Bioscience，英国），核纤层蛋白B1（LIMN1）抗体（9272，BBI，美国），lipofectamine 2000（11668-019，Invitrogen，美国），核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒（P1200，北京普利莱基因技术有限公司）。石蜡病理切片机（RM2245，德国LEIKA公司），低温离心机（EBA12R，德国Hettich公司），荧光倒置显微镜（DMI3000B，德国Leica公司），全自动生化分析仪（Beckman X20，美国）。

1.2 实验方法

1.2.1 动物饲养与分组 2016年1—4月至选取清洁级6周龄雄性Wistar大鼠36只，体重200 g左右，自由饮水，室温约25 ℃，相对湿度40%~70%，12 h/d光照维持，昼夜循环。所有大鼠进行1周适应性喂养后采用随机数字表法分为对照（ND）组14只和造模组22只。ND组给予普通饲料（河北医科大学实验动物中心）喂养，造模组给予高果糖饲料（普通饲料中加入食品级结晶果糖，其中果糖为总热量的60%）喂养。8周后，两组随机抽取6只大鼠，行高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验证实造模组胰岛素抵抗形成。继续将造模组大鼠随机分为高果糖（HFD）组8只和高果糖+艾塞那肽（HFD+Ex）组8只。HFD+Ex组给予艾塞那肽注射液（10 μg/kg）腹部皮下注射，2次/d，干预4周，其余两组给予等体积生理盐水皮下注射。实验结束后收集大鼠体质量、肝指数〔肝指数（%）=（肝湿重/体重）×100%〕、TG、总胆固醇（TC）、游离脂肪酸（FFA）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）、空腹血糖（FBG）、空腹胰岛素（FINS）、葡萄糖曲线下面积（AUCglu）、葡萄糖输注速率（GIR）、肝脏TG、肝脏油红O染色，并测定SREBP-1和下游脂质合成的关键酶FAS、ACC、SCD-1以及β-catenin的蛋白表达水平。因个别大鼠在饲养过程中死亡，最后每组大鼠剩余6~8只，每组纳入6只大鼠进行实验并进行分析。

1.2.2 细胞培养与分组 HepG2细胞置于37 ℃、含5%CO_2的细胞培养箱中，采用含10%胎牛血清、1%非必需氨基酸、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的最低必需培养基（MEM）培养。细胞贴壁之后加入含有或不含有25 mmol/L果糖的5%胎牛血清新培养基培养24 h，随后用β-catenin小干扰RNA（siRNA）转染细胞下调β-catenin表达，HepG2细胞用25 mmol/L果糖和100 nmol/L exendin-4处理，未转染的细胞用作对照，细胞分为正常对照组（Con）、高果糖组（HF）、高果糖+exendin-4组（HF+Ex4）、高果糖+exendin-4+对照siRNA组（HF+Ex4+Si-control）、高果糖+exendin-4+β-catenin siRNA组（HF+Ex4+Si-β-catenin）。

1.2.3 siRNA转染 细胞浓度达到70%左右时分别用适量不含血清及双抗Opti-MEM培养基稀释相应的siRNA

和转染试剂 lipofectamine 2000，放入 37 ℃孵箱转染 6 h 后，更换培养基培养 48 h 后收集细胞。

1.2.4 腹腔注射葡萄糖耐量试验（IPGTT） 大鼠禁食过夜后取鼠尾静脉血测定 FBG，给予 50% 葡萄糖注射液 2 g/kg 腹腔注射，分别测给糖后 5′、10′、30′、60′、120′ 血糖，计算 AUCglu。

1.2.5 清醒状态下高胰岛素－正葡萄糖钳夹试验 参考 KRAEGEN 等[11]建立的高胰岛素－正葡萄糖钳夹技术，评价大鼠胰岛素敏感性。具体操作步骤：3% 戊巴比妥钠麻醉大鼠，予右侧颈动脉、右侧颈静脉插管术。应激反应消失且大鼠体重恢复后，禁食 12 h 过夜行清醒状态下高胰岛素－正葡萄糖钳夹试验。经三通管颈静脉导管两端分别连接浓度为 40 mU/ml 胰岛素注射液和 30% 葡萄糖注射液。测定基础血糖值后以 4 mU · kg^{-1} · min^{-1} 速率输注胰岛素溶液，当血糖低于基础值时，同步以 9~14 mg · kg^{-1} · min^{-1} 速率输注 30% 葡萄糖溶液，根据血糖调整 GIR，将血糖稳定在（5.0 ± 0.5） mmol/L 的范围内。GIR= 稳态时葡萄糖输注速率 × 葡萄糖浓度 ×1 000/ 体质量（kg）/60。

1.2.6 TG 含量测定 精确称重肝组织 50 mg，加入裂解液 1ml，匀浆裂解后提取脂质。HepG2 细胞充分洗涤后用裂解缓冲液裂解 10 min 室温 2 000 rpm 离心 5 min 后收集上清液。按照 TG 测定试剂盒提供的操作方法测定 TG 含量。

1.2.7 油红 O 染色 肝脏组织冰冻切片 8 μm，10% 中性甲醛固定 10~15 min，然后进行水洗。油红染色 10~15 min 后用 60% 异丙醇脱色，水洗后苏木精淡染核后拍照。培养的细胞则在 4% 多聚甲醛中固定 30 min，并用 1% 油红 O 染色 2 h 拍照。

1.2.8 蛋白表达测定 提取大鼠肝脏组织或培养细胞总蛋白及核蛋白，应用 Western Blot 方法测定 SREBP-1 和下游脂质合成的关键酶 FAS、ACC、SCD-1 以及 β-catenin 的蛋白表达水平，内参为 β-actin 和 LIMN1。取 50 μg 蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳，经过转膜、封闭，加入 1∶1 000（1∶2 000 稀释的抗体，4 ℃摇床过夜，Tris 缓冲盐液洗膜后加入 1 ∶ 10 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1 h，经化学发光、显影、定影及蛋白表达半定量进行分析。

1.3 统计学方法 应用统计学软件 SPSS21.0 进行数据处理。计量资料符合正态分布的以（$\bar{x} \pm s$）表示，两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用完全随机设计单因素方差分析，组间两两比较用 LSD-t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰岛素抵抗大鼠造模验证及药物干预后糖脂水平

高果糖喂养 8 周后造模组大鼠体质量、肝指数、肝脏 TG 水平高于 ND 组，GIR 水平低于 ND 组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。

药物干预 4 周后三组大鼠体质量、肝指数、TG、FFA、ALT、FBG、FINS、AUCglu、GIR 比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。其中 HFD 组大鼠体质量、肝指数、TG、FFA、ALT、FBG、FINS、AUCglu 高于 ND 组，GIR 低于 ND 组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；HFD+Ex 组大鼠体质量、肝指数、FFA、ALT、FBG、FINS、AUCglu 低于 HFD 组，GIR 高于 HFD 组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

表 1 高果糖喂养 8 周后 ND 组与造模组大鼠相关指标比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 1 Comparison of relevant indicators of rats between ND group and model group after 8-week high-fructose feeding

组别	只数	体质量（g）	肝指数（%）	肝脏 TG（mmol/g）	GIR（mg · kg^{-1} · min^{-1}）
ND 组	6	305.67 ± 24.57	2.44 ± 0.25	0.71 ± 0.07	27.36 ± 2.16
造模组	6	328.83 ± 35.11[a]	2.58 ± 0.3[a]	1.55 ± 0.15[a]	18.17 ± 2.62[a]
t 值		-2.242	-2.524	-12.536	5.409
P 值		0.041	0.030	<0.001	0.020

注：ND= 对照，TG= 三酰甘油，GIR= 葡萄糖输注速率

2.2 大鼠肝脏脂质沉积变化 HFD 组（2.35 ± 0.20 mmol/L）较 ND 组（0.80 ± 0.13 mmol/L）大鼠肝脏 TG 浓度升高，肝细胞内可见大量红色脂滴聚集；给药后 HFD+Ex 组（1.63 ± 0.18 mmol/L）肝脏 TG 浓度降低，

表 2 药物干预 4 周后三组大鼠相关指标比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 2 Comparison of relevant indicators of rats in three groups after 4-week drug intervention

组别	例数	体质量（g）	肝指数（%）	TG（mmol/L）	TC（mmol/L）	FFA（mmol/L）	ALT（U/L）	AST（U/L）	FBG（mmol/L）	FINS（mU/L）	AUCglu（mmol/L × h）	GIR（mg · kg^{-1} · min^{-1}）
ND 组	6	353.75 ± 35.41	2.46 ± 0.26	0.51 ± 0.13	1.41 ± 0.35	0.71 ± 0.20	34.43 ± 4.86	125.88 ± 19.46	5.89 ± 1.03	0.90 ± 0.12	13.48 ± 1.85	26.75 ± 1.63
HFD 组	6	405.83 ± 38.34[a]	2.96 ± 0.15[a]	0.84 ± 0.22[a]	1.64 ± 0.22	0.95 ± 0.15[a]	46.29 ± 8.64[a]	129.43 ± 30.14	7.13 ± 0.49[a]	1.76 ± 0.13[a]	21.25 ± 2.77[a]	15.36 ± 1.22[a]
HFD+Ex 组	6	329.23 ± 28.94[b]	2.60 ± 0.15[b]	0.67 ± 0.17	1.46 ± 0.1	0.8 ± 0.15[b]	38.00 ± 8.50[b]	115.43 ± 34.96	5.91 ± 0.92[b]	1.01 ± 0.10[b]	15.02 ± 2.50[b]	20.88 ± 1.29[b]
F 值		4.511	3.869	7.128	1.447	4.519	5.536	0.939	4.968	8.799	10.411	7.479
P 值		0.025	0.041	0.005	0.260	0.025	0.013	0.410	0.018	0.001	0.011	0.005

注：HFD= 高果糖，HFD+Ex= 高果糖 + 艾塞那肽，TC= 总胆固醇，FFA= 游离脂肪酸，ALT= 丙氨酸氨基转移酶，AST= 天冬氨酸氨基转移酶，FBG= 空腹血糖，FINS= 空腹胰岛素，AUCglu= 葡萄糖曲线下面积；[a] 表示与 ND 组比较 $P<0.05$，[b] 表示与 HFD 组比较 $P<0.05$

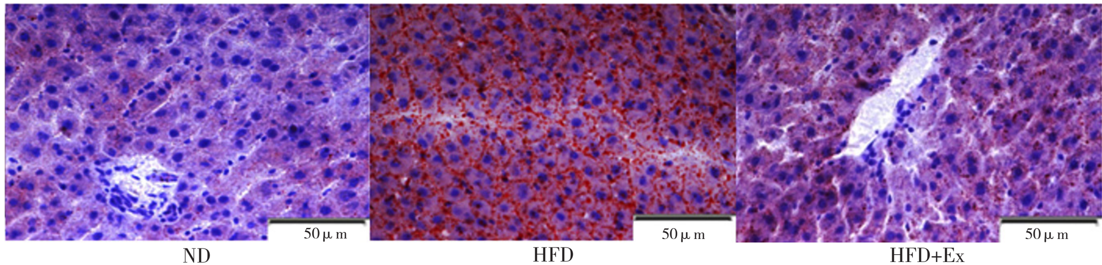
红色脂滴减少（F=165.124，P<0.001），见图 1。

2.3　大鼠肝脏脂质从头合成通路相关因子表达　经蛋白质印迹（Western Blot）条带灰度值分析，三组大鼠肝脏脂质从头合成通路转录因子 SREBP-1 以及下游脂质合成关键酶 FAS、SCD-1、ACC 蛋白表达比较，差异有统计学意义（P<0.05）。其中 HFD 组大鼠肝脏脂质从头合成通路 SREBP-1、FAS、SCD-1、ACC 蛋白表达均高于 ND 组，差异有统计学意义（P<0.05）；HFD+Ex 组大鼠肝脏脂质从头合成通路 SREBP-1、FAS、SCD-1、ACC 蛋白表达均低于 HFD 组，差异有统计学意义（P<0.05），见表 3。

2.4　大鼠肝组织 β-catenin 蛋白表达　经 Western Blot 蛋白条带灰度值分析，三组大鼠肝组织 β-catenin 的总蛋白（内参 β-actin）及核内蛋白（内参 LMNB1）表达比较，差异有统计学意义（P<0.05）。其中 HFD 组大鼠肝组织 β-catenin 的总蛋白及核内蛋白表达低于 ND 组，差异有统计学意义（P<0.05）；药物干预后 HFD+Ex 组大鼠肝组织 β-catenin 的总蛋白及核内蛋白表达高于 HFD 组，差异有统计学意义（P<0.05），见表 4。

2.5　HepG2 细胞各组 β-catenin 蛋白表达及细胞脂质沉积变化　为了进一步研究 β-catenin 与 GLP-1 受体激动剂 exendin-4 作用之间的因果关系，用 siRNA 敲低 β-catenin。结果显示，五组细胞 β-catenin 总蛋白（内参 β-actin）、核内蛋白（内参 LMNB1）表达、TG 水平比较，差异均有统计学意义（F=20.467、11.305、28.312，P<0.05）。其中 HF 组细胞 β-catenin 总蛋白、核内蛋白表达低于 Con 组，TG 水平高于 Con 组，差异有统计学意义（P<0.05）；HF+Ex4 组、HF+Ex4+Si-control 组细胞 β-catenin 总蛋白、核内蛋白表达均高于 HF 组，TG 水平低于 HF 组，差异有统计学意义（P<0.05）；HF+Ex4+Si-β-catenin 组细胞 β-catenin 总蛋白、核内蛋白表达低于 HF+Ex4 组，TG 水平高于 HF+Ex4 组，差异有统计学意义（P<0.05）；油红 O 染色显示，HF+Ex4+Si-β-catenin 组脂滴高于 HF+Ex4 组，见表 5、图 2。

2.6　HepG2 细胞脂质从头合成途径相关因子的表达　经 Western Blot 蛋白条带灰度值分析，五组细胞脂质从头合成通路转录因子 SREBP-1 以及下游脂质合成关键酶 ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达比较，差异有统计学意义（P<0.05）。其中 HF 组细胞脂质从头合成通路 SREBP-1、ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达均高于 Con 组，差异有统计学意义（P<0.05）；HF+Ex4 组、



注：ND= 对照，HFD= 高果糖，HFD+Ex= 高果糖 + 艾塞那肽

图 1　三组大鼠肝组织油红 O 染色

Figure 1　Oil red O staining of liver tissue in three groups of rats

表 3　三组大鼠肝脏脂质从头合成通路 SREBP-1、ACC、FAS 和 SCD-1 蛋白表达（$\bar{x} \pm s$）

Table 3　Expression levels of SREBP-1，ACC，FAS and SCD-1 proteins in hepatic *de novo* lipid synthesis pathway of three groups of rats

指标	ND 组（n=6）	HFD 组（n=6）	HFD+Ex 组（n=6）	F 值	P 值
SREBP-1	0.50 ± 0.05	0.91 ± 0.12^a	0.64 ± 0.07^b	24.426	0.001
FAS	0.49 ± 0.07	0.91 ± 0.08^a	0.54 ± 0.04^b	30.948	0.001
SCD-1	0.48 ± 0.06	0.88 ± 0.06^a	0.56 ± 0.08^b	37.117	<0.001
ACC	0.58 ± 0.11	0.93 ± 0.07^a	0.56 ± 0.04^b	21.583	0.002

注：SREBP-1= 固醇调节元素结合蛋白 1，ACC= 乙酰辅酶 A 羧化酶，FAS= 脂肪酸合成酶；SCD-1= 硬脂酰 CoA 脱饱和酶 1；^{a} 表示与 ND 组比较 P<0.05，^{b} 表示与 HFD 组比较 P<0.05

表 4　三组大鼠 β-catenin 蛋白表达（$\bar{x} \pm s$）

Table 4　Expression levels of β-catenin protein in three groups of rats

指标	ND 组（n=6）	HFD 组（n=6）	HFD+Ex 组（n=6）	F 值	P 值
β-catenin 总蛋白	0.82 ± 0.05	0.43 ± 0.06^a	0.67 ± 0.08^b	12.373	0.007
β-catenin 核内蛋白	0.85 ± 0.07	0.58 ± 0.08^a	0.94 ± 0.10^b	32.030	0.001

注：^{a} 表示与 ND 组比较 P<0.05，^{b} 表示与 HFD 组比较 P<0.05

HF+Ex4+Si-control 组 SREBP-1、ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达均低于 HF 组，差异有统计学意义（P<0.05）；HF+Ex4+Si-β-catenin 组 SREBP-1、ACC、FAS、SCD-1 蛋白表达高于 HF+Ex4 组，差异有统计学意义（P<0.05），见表 6。

3 讨论

NAFLD 是一种与胰岛素抵抗密切相关的以肝脏脂质沉积为特征的代谢应激性肝病。随着生活方式的改变，NAFLD 的发病率逐年升高，全球患病率约为 25%[12]，NAFLD 目前尚无特效药物，针对 NAFLD 发生、发展机制研发新药仍然是亟待解决的问题。流行病学研究表明，果糖的过量摄入和 NAFLD 的发病相关[13]。在本团队前期研究中发现肝脏内源性 TG 生成过多是高果糖饮食导致肝脏脂质沉积的主要机制[14-15]。本研究结果显示，高果糖可以引起大鼠肝脏脂质沉积，GLP-1 受体激动剂可能通过调控 β-catenin 抑制肝脏脂质从头合成途径从而改善高果糖饮食诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积。

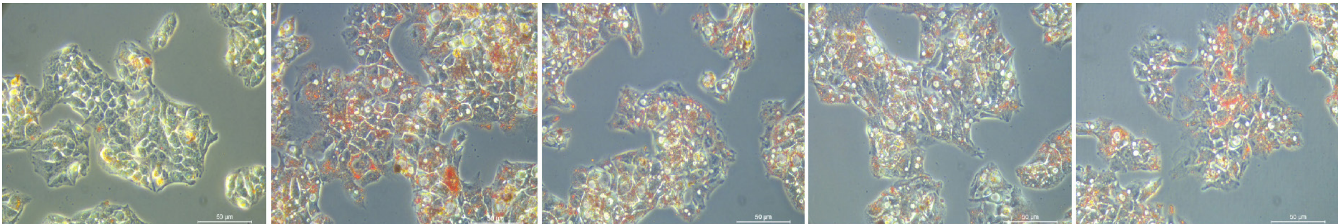
本研究选取降糖药物 GLP-1 受体激动剂艾塞那肽经 4 周用药维持了体内血糖稳态，与既往研究结果一致[16]。人们在治疗糖尿病时发现 GLP-1 受体激动剂在降糖、减重、降低胰岛素抵抗、改善体脂分布等方面均有较好效果[17-18]，对合并 NAFLD 治疗效果引起人们关注。临床试验表明 GLP-1 受体激动剂改善了 NAFLD 患者肝脏组织学和酶学表现[19]。动物实验研究显示 GLP-1 受体激动剂能减轻高脂诱导的肥胖小鼠的肝脏脂质沉积[20]，还可以降低高脂喂养小鼠的体质量、肝酶和肝脂水平[21]。本研究结果显示，艾塞那肽干预减轻了高果糖导致的肝脏脂质沉积，并且降低了肝酶，同时发现药物干预 4 周后大鼠体质量、肝指数明显降低，这些可能是肝脏组织学变化的重要原因[22]，而体质量下降可能与给药后体内脂肪组织的减少有关[23]。另外本研究发现艾塞那肽注射后大鼠血清 FFA、TG、IPGTT、GIR 下降，提示胰岛素抵抗及糖脂代谢的改善。胰岛素抵抗和脂代谢异常是 NAFLD 发病基础。在胰岛素抵抗时胰岛素抑制胰岛素敏感酯酶活性的作用下降，FFA 水

表 5 HepG2 细胞各组 β-catenin 蛋白表达及 TG 水平改变（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 Changes of β-catenin protein expression and TG in HepG2 cells

指标	Con 组（n=6）	HF 组（n=6）	HF+Ex4 组（n=6）	HF+Ex4+Si-control 组（n=6）	HF+Ex4+Si-β-catenin 组（n=6）	F 值	P 值
β-catenin 总蛋白	0.52±0.03	0.40±0.02^a	0.63±0.07^b	0.56±0.06^b	0.17±0.02^{ac}	20.467	<0.001
β-catenin 核内蛋白	0.54±0.07	0.41±0.06^a	0.58±0.05^b	0.62±0.10^b	0.18±0.01^{ac}	11.305	0.001
TG（μmol/mg）	26.36±2.71	44.94±3.79^a	33.06±5.82^b	34.29±5.17^b	40.44±5.15^{ac}	9.369	0.01

注：Con=正常对照，HF=高果糖，HF+Ex4=高果糖+exendin-4，HF+Ex4+Si-control=高果糖+exendin-4+对照 siRNA，HF+Ex4+Si-β-catenin=高果糖+exendin-4+β-catenin siRNA；^{a}表示与组比较 P<0.05，^{b}表示与 HF 组比较 P<0.05，^{c}表示与 HF+Ex4 组比较 P<0.05



Con HF HF+Ex4 HF+Ex4+Si-control HF+Ex4+Si-β-catenin

注：Con=正常对照，HF=高果糖，HF+Ex4=高果糖+exendin-4，HF+Ex4+Si-control=高果糖+exendin-4+对照 siRNA，HF+Ex4+Si-β-catenin=高果糖+exendin-4+β-catenin siRNA

图 2 HepG2 细胞油红 O 染色

Figure 2 Oil red O staining in HepG2 cells

表 6 HepG2 细胞脂质从头合成途径相关因子的表达（$\bar{x}\pm s$）

Table 6 The expression of related factors of *de novo* lipid synthesis pathway in HepG2 cells

指标	Con 组（n=6）	HF 组（n=6）	HF+Ex4 组（n=6）	HF+Ex4+Si-control 组（n=6）	HF+Ex4+Si-β-catenin 组（n=6）	F 值	P 值
SREBP-1	0.38±0.05	0.59±0.03^a	0.47±0.04^b	0.47±0.07^b	0.58±0.08^{ac}	7.019	0.006
ACC	0.46±0.04	0.62±0.05^a	0.48±0.05^b	0.49±0.05^b	0.60±0.10^{ac}	3.903	0.037
FAS	0.45±0.05	0.66±0.04^a	0.50±0.05^b	0.49±0.06^b	0.61±0.04^{ac}	8.956	0.002
SCD-1	0.56±0.06	0.88±0.08^a	0.65±0.05^b	0.63±0.03^b	0.83±0.07^{ac}	14.683	<0.001

注：^{a}表示与组比较 P<0.05，^{b}表示与 HF 组比较 P<0.05，^{c}表示与 HF+Ex4 组比较 P<0.05

平升高，肝脏合成 TG 的底物增多，导致肝脏脂质沉积。贯穿 NAFLD 发病始终的核心病理基础为肝细胞内脂质的异常沉积。既往研究中大鼠大量摄入果糖后，肝脏为保持能量平衡，可通过脂质从头合成途径将过多的果糖转化为脂质储存在肝脏，高果糖摄入引起肝脏脂质沉积的一个主要机制为果糖过量摄入后内源性脂质合成增加[14，24]。本研究结果显示，大鼠高果糖饮食后出现肝脏脂质沉积，并发现高果糖环境下大鼠肝脏脂质合成的转录因子 SREBP-1 及下游关键酶 SCD-1、FAS、ACC 的表达增加。

GLP-1 受体激动剂对 NAFLD 的治疗作用除了减重、改善胰岛素抵抗获益外，研究发现 GLP-1 受体敲除小鼠给予GLP-1受体激动剂后肝脏脂代谢没有明显改善，表明 GLP-1 可能直接作用于肝脏 GLP-1 受体发挥作用，但其作用机制尚不明确[21]。在动物实验中，GLP-1 受体激活可以改善高脂诱导的 NAFLD 小鼠肝脏脂质沉积[25]，GLP-1 受体激动剂可能通过下调 SREBP-lc、脂肪酸合成酶、二脂酰甘油基转移酶基因表达改善肝脏脂质合成[26]，另外给予利拉鲁肽后 NAFLD 小鼠肝脏 ACC 和 FAS 的表达下降[27]。本研究发现 GLP-1 受体激动剂能通过下调肝脏转录因子 SREBP-1 的表达从而抑制脂质合成途径的关键酶 ACC、SCD-1、FAS 的表达抑制高果糖饮食诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积，提示 GLP-1 受体激动剂对 NAFLD 的治疗作用不仅仅通过减重和改善胰岛素抵抗获益，可能通过与肝细胞的直接作用下调脂质从头合成通路调控肝脏脂质合成。但 GLP-1 受体激动剂与细胞膜的 GLP-1 受体结合后通过什么途径调节位于内质网上 SREBP-1，目前尚无报道。有研究报道 β-catenin 可以调控 SREBP-1c 的表达改善骨骼肌细胞中脂质沉积[28]，leptin 可以激活 β-catenin 通路降低肝脏 SREBP-1 表达[29]，以上研究均说明 β-catenin 可能与 SREBP-1 存在密切关系。

β-catenin 早期作为黏附因子被发现，后来发现 β-catenin 参与调控细胞黏附、信号转导、代谢、增殖等多项生物进程，而且与糖尿病、NAFLD、肥胖的发生、发展密切相关。研究显示肥胖大鼠体内 β-catenin 表达减低，下调 β-catenin 表达加重了脂肪酸诱导的肝脏脂质沉积[30]，小鼠敲除肝脏 β-catenin 基因可以发生肝脏脂质沉积[11]，表明 β-catenin 参与了肝脏的脂质代谢。本研究结果显示，高果糖饮食导致大鼠肝脏脂质沉积、β-catenin 总蛋白及核内蛋白表达降低，艾塞那肽干预后 β-catenin 表达增加、肝脏脂质沉积改善，提示 GLP-1 受体激动剂可能促进了 β-catenin 表达和核转位改善了肝脏脂质沉积。肝外组织研究发现 β-catenin 参与了 GLP-1 的功能发挥[7]。GLP-1 通过作用于脂肪、胰腺调控 β-catenin 表达调节脂肪生成和糖代谢，该路径可能是 GLP-1 与 GLP-1 受体结合后激活环磷酸腺苷 / 蛋白激酶 A，β-catenin 的 Ser675 位点经磷酸化后进入细胞核发挥功能[8]。随着肝脏 GLP-1 受体的发现[9]，推测 GLP-1 受体激动剂可能通过同样方式结合 GLP-1 受体诱导 β-catenin 磷酸化后入核发挥功能改善肝脏脂质沉积。研究发现 exendin-4 可改善棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂肪变性，抑制 β-catenin 表达后脂肪转录因子表达增加[31]。高脂喂养小鼠给予 GLP-1（28-36）干预后改善了血糖、体质量，同时 β-catenin 表达升高[32]。这些研究均提示 β-catenin 是 GLP-1 受体激动剂抑制肝脏脂质沉积的关键分子。本研究在细胞水平用 siRNA 抑制 β-catenin 表达，油红 O 染色显示脂滴在 HF+Ex4+Si-β-catenin 组中增加以及 TG 的含量较 HF+Ex4 组增加提示 β-catenin 表达的下调逆转了 HepG2 细胞中 exendin-4 抑制的脂质沉积，同时 SREBP-1 表达在 β-catenin 缺陷型 HepG2 细胞中明显上调，下游关键酶 ACC、FAS 和 SCD-1 的蛋白表达水平也显著上调，提示脂质合成通路相关因子的表达亦增高。

综上，GLP-1 受体激动剂可能通过 β-catenin 调控肝脏 SREBP-1 表达从而调控脂质合成途径下游关键酶 ACC、FAS、SCD-1 的表达改善高果糖诱导的胰岛素抵抗大鼠肝脏脂质沉积，GLP-1 受体激动剂是治疗 NAFLD 的潜在新药，β-catenin 可能是药物治疗的重要靶标。然而本研究尚有不足之处，部分指标影响机制相对复杂，关于 GLP-1 与 β-catenin 的相互作用仍有待于靶向敲除大鼠肝脏 β-catenin 基因在动物水平进一步研究。

作者贡献：高哲负责实验设计、文章构思与实验实施，并对文章负责；段凯欣负责数据统计、绘制图表；吕秀芹负责论文检索与数据管理；马慧娟、张志梅负责动物实验与细胞实验以及实验相关指标检测；宋光耀负责控制实验质量、论文修订与审校。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] MORRISON A E，ZACCARDI F，KHUNTI K，et al. Causality between non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes：a meta-analysis with bias analysis［J］. Liver Int，2019，39（3）：557-567. DOI：10.1111/liv.13994.

[2] 丁晓东，范建高. 重视非酒精性脂肪性肝病合并 2 型糖尿病的防治［J］. 中华糖尿病杂志，2016，8（9）：513-515. DOI：10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2016.09.001.

[3] 夏明锋，卞华，高鑫. 从非酒精性脂肪肝到代谢相关性脂肪肝命名变化的思考［J］. 中华糖尿病杂志，2020，12（7）：445-450. DOI：10.3760/cma.j.cn115791-20200324-00175.

[4] SONG T T，JIA Y J，LI Z L，et al. Effects of liraglutide on nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes

mellitus: a systematic review and meta-analysis [J]. Diabetes Ther, 2021, 12 (6): 1735-1749. DOI: 10.1007/s13300-021-01072-4.

[5] NEWSOME P N, BUCHHOLTZ K, CUSI K, et al. A placebo-controlled trial of subcutaneous semaglutide in nonalcoholic steatohepatitis [J]. N Engl J Med, 2021, 384 (12): 1113-1124. DOI: 10.1056/NEJMoa2028395.

[6] PEDONE E, MARUCCI L. Role of β-catenin activation levels and fluctuations in controlling cell fate [J]. Genes (Basel), 2019, 10 (2): 176. DOI: 10.3390/genes10020176.

[7] CHIANG Y T, IP W, JIN T R. The role of the Wnt signaling pathway in incretin hormone production and function [J]. Front Physiol, 2012, 3: 273. DOI: 10.3389/fphys.2012.00273.

[8] XIONG X Q, SHAO W J, JIN T R. New insight into the mechanisms underlying the function of the incretin hormone glucagon-like peptide-1 in pancreatic β-cells: the involvement of the Wnt signaling pathway effector β-catenin [J]. Islets, 2012, 4 (6): 359-365. DOI: 10.4161/isl.23345.

[9] GUPTA N A, MELLS J, DUNHAM R M, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is present on human hepatocytes and has a direct role in decreasing hepatic steatosis in vitro by modulating elements of the insulin signaling pathway [J]. Hepatology, 2010, 51 (5): 1584-1592. DOI: 10.1002/hep.23569.

[10] BEHARI J, YEH T H, KRAULAND L, et al. Liver-specific beta-catenin knockout mice exhibit defective bile acid and cholesterol homeostasis and increased susceptibility to diet-induced steatohepatitis [J]. Am J Pathol, 2010, 176 (2): 744-753. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090667.

[11] KRAEGEN E W, JAMES D E, BENNETT S P, et al. In vivo insulin sensitivity in the rat determined by euglycemic clamp [J]. Am J Physiol, 1983, 245 (1): E1-7. DOI: 10.1152/ajpendo.1983.245.1.e1.

[12] MUNDI M S, VELAPATI S, PATEL J, et al. Evolution of NAFLD and its management [J]. Nutr Clin Pract, 2020, 35 (1): 72-84. DOI: 10.1002/ncp.10449.

[13] DISTEFANO J K. Fructose-mediated effects on gene expression and epigenetic mechanisms associated with NAFLD pathogenesis [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77 (11): 2079-2090. DOI: 10.1007/s00018-019-03390-0.

[14] YU X, REN L P, WANG C, et al. Role of X-box binding protein-1 in fructose-induced De novo lipogenesis in HepG2 cells [J]. Chin Med J (Engl), 2018, 131 (19): 2310-2319. DOI: 10.4103/0366-6999.241799.

[15] SHI L J, SHI L, SONG G Y, et al. Oxymatrine attenuates hepatic steatosis in non-alcoholic fatty liver disease rats fed with high fructose diet through inhibition of sterol regulatory element binding transcription factor 1 (Srebf1) and activation of peroxisome proliferator activated receptor alpha (Pparα) [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 714 (1/2/3): 89-95. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.06.013.

[16] XU F, LI Z, ZHENG X B, et al. SIRT1 mediates the effect of GLP-1 receptor agonist exenatide on ameliorating hepatic steatosis [J]. Diabetes, 2014, 63 (11): 3637-3646. DOI: 10.2337/db14-0263.

[17] KALOGIROU M, SINAKOS E. Treating nonalcoholic steatohepatitis with antidiabetic drugs: will GLP-1 agonists end the struggle? [J]. World J Hepatol, 2018, 10 (11): 790-794. DOI: 10.4254/wjh.v10.i11.790.

[18] DUAN K X, YAN X L, GAO Z, et al. Effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on fat distribution in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. J Diabetes Investig, 2022, 13 (7): 1149-1160. DOI: 10.1111/jdi.13775.

[19] SOFOGIANNI A, FILIPPIDIS A, CHRYSAVGIS L, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists in non-alcoholic fatty liver disease: an update [J]. World J Hepatol, 2020, 12 (8): 493-505. DOI: 10.4254/wjh.v12.i8.493.

[20] SAMSON S L, SATHYANARAYANA P, JOGI M, et al. Exenatide decreases hepatic fibroblast growth factor 21 resistance in non-alcoholic fatty liver disease in a mouse model of obesity and in a randomised controlled trial [J]. Diabetologia, 2011, 54 (12): 3093-3100. DOI: 10.1007/s00125-011-2317-z.

[21] TREVASKIS J L, GRIFFIN P S, WITTMER C, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonism improves metabolic, biochemical, and histopathological indices of nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 302(8): G762-772. DOI: 10.1152/ajpgi.00476.2011.

[22] LIU Y, WEI R, HONG T P. Potential roles of glucagon-like peptide-1-based therapies in treating non-alcoholic fatty liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (27): 9090-9097. DOI: 10.3748/wjg.v20.i27.9090.

[23] JENDLE J, NAUCK M A, MATTHEWS D R, et al. Weight loss with liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide-1 analogue for type 2 diabetes treatment as monotherapy or added to metformin, is primarily as a result of a reduction in fat tissue [J]. Diabetes Obes Metab, 2009, 11 (12): 1163-1172. DOI: 10.1111/j.1463-1326.2009.01158.x.

[24] TER HORST K W, SERLIE M J. Fructose consumption, lipogenesis, and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Nutrients, 2017, 9 (9): 981. DOI: 10.3390/nu9090981.

[25] BIFARI F, MANFRINI R, DEI CAS M, et al. Multiple target tissue effects of GLP-1 analogues on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) [J]. Pharmacol Res, 2018, 137: 219-229. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.09.025.

[26] PARLEVLIET E T, WANG Y N, GEERLING J J, et al. GLP-1 receptor activation inhibits VLDL production and reverses hepatic steatosis by decreasing hepatic lipogenesis in high-fat-fed APOE*3-Leiden mice [J]. PLoS One, 2012, 7 (11): e49152. DOI: 10.1371/journal.pone.0049152.

[27] ZHANG L L, YANG M L, REN H, et al. GLP-1 analogue prevents NAFLD in ApoE KO mice with diet and Acrp30 knockdown by inhibiting c-JNK [J]. Liver Int, 2013, 33 (5): 794-804. DOI: 10.1111/liv.12120.

[28] ABIOLA M, FAVIER M, CHRISTODOULOU-VAFEIADOU E, et al. Activation of Wnt/beta-catenin signaling increases insulin sensitivity through a reciprocal regulation of Wnt10b and SREBP-1c

in skeletal muscle cells［J］. PLoS One，2009，4（12）：e8509. DOI：10.1371/journal.pone.0008509.

［29］ZHAI X G，YAN K F，FAN J Y，et al. The β-catenin pathway contributes to the effects of leptin on SREBP-1c expression in rat hepatic stellate cells and liver fibrosis［J］. Br J Pharmacol，2013，169（1）：197-212. DOI：10.1111/bph.12114.

［30］ZHOU D，LEZMI S，WANG H，et al. Fat accumulation in the liver of obese rats is alleviated by soy protein isolate through β-catenin signaling［J］. Obesity（Silver Spring），2014，22（1）：151-158. DOI：10.1002/oby.20421.

［31］KHALIFA O，AL-AKL N S，ERRAFII K，et al. Exendin-4 alleviates steatosis in an in vitro cell model by lowering FABP1 and FOXA1 expression via the Wnt/-catenin signaling pathway［J］. Sci Rep，2022，12（1）：2226. DOI：10.1038/s41598-022-06143-5.

［32］IP W，SHAO W J，CHIANG Y T，et al. GLP-1-derived nonapeptide GLP-1（28-36）amide represses hepatic gluconeogenic gene expression and improves pyruvate tolerance in high-fat diet-fed mice［J］. Am J Physiol Endocrinol Metab，2013，305（11）：E1348-1358. DOI：10.1152/ajpendo.00376.2013.

（收稿日期：2023-02-05；修回日期：2023-03-23）

（本文编辑：康艳辉）